

PARTICULARIDADES EPIDÉRMICAS EN ALGUNAS ESPECIES DE VERBENACEAE

NORMA E. BONZANI*
EVA M. FILIPPA *
GLORIA E. BARBOZA*, **

RESUMEN

Se describe la variada y compleja organización del aparato estomático presente en algunos representantes de los géneros *Aloysia* Palau, *Lantana* L. y *Lippia* L. (Verbenaceae). Se señalan, para la familia, estructuras novedosas: estomas sobre columnas y tricomas sobre emergencias. Se sugiere una posible función secretora para los estomas en columnas.

Palabras clave: estructuras estomáticas, tricomas, Verbenaceae

ABSTRACT

The complex and varied organization in the stomatic apparatus of some Verbenaceae genera (*Aloysia* Palau, *Lantana* L. and *Lippia* L.) is studied. Novel structures are described for the first time in the family: stomata raised on columns and trichomes on emergences. A possible secretory function for the stomata raised on columns is suggested.

Key words: stomatic structures, trichomes, Verbenaceae.

INTRODUCCIÓN

Las verbenáceas comprenden alrededor de 100 géneros y unas 2000 especies, distribuidos en regiones tropicales, subtropicales y templadas de ambos hemisferios

* Cátedra de Botánica (Dpto. Farmacia), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Casilla de Correo 495. 5000, Córdoba, Argentina

** Miembro de la Carrera del Investigador Científico del CONICET.

(Troncoso y Botta, 1993). Familia considerada de importancia porque muchos de sus géneros se cultivan como ornamentales (*v.g. Lantana* L. y *Glandularia* Gmelin, etc.), o por otros, que poseen representantes aromáticos —*Lippia* L. y *Aloysia* Palau—, utilizados en medicina popular, por sus propiedades digestivas (Fester *et al.*, 1969; Toursarkissian, 1980; Ratera y Ratera, 1980; Bruneton, 1995). Al estudiar las características morfológicas y anatómicas de plantas de uso en medicina popular, a fin de ejercer un adecuado control de calidad, se encontraron en los órganos vegetativos de especies de *Aloysia*, *Lantana* y *Lippia*, particularidades epidérmicas muy llamativas, algunas de ellas novedosas para la familia, que a continuación damos a conocer.

MATERIALES Y MÉTODO

Se trabajó con material fresco y conservado en F.A.A. Se realizaron dos tipos de preparaciones: temporarios y permanentes. Para los primeros, se efectuaron cortes muy finos a mano alzada o extendidos de epidermis, foliar y caulinar, diafanizados con hipoclorito de sodio al 50 %; en ambos casos, se realizaron tinciones diferenciales con sudán III y IV, safranina, alcian blue, lugol y cristal violeta. Para las preparaciones permanentes, el material se deshidrató en una serie de alcohol etílico y xilol y se incluyó en parafina; luego, se llevaron a cabo cortes de 9 a 14 micras, que se tiñeron con la triple coloración (Conn, Darrow y Emmel, 1960). Se empleó también el microscopio electrónico de barrido (MEB), —del laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido del Noroeste Argentino (LAMENOA-CO-NICET)—, para lo cual el material se fijó en F.A.A. y se deshidrató en formaldehído dimetil acetal (F.D.A.), mediante dos pasos consecutivos de 10 minutos cada uno; posteriormente, se realizó secado al punto crítico y baño de oro-paladio.

Los dibujos se realizaron con ayuda de una cámara clara. Las fotomicrografías se tomaron con un fotomicroscopio Axiophot Carl Zeiss.

A continuación se detallan los materiales estudiados, todos procedentes de Argentina y depositados en el Herbario del Museo Botánico de Córdoba (CORD).

Aloysia gratissima (Gill. et Hook.) Troncoso. *Prov. Córdoba. Dpto. Colón*: El Diquecito, Bonzani 7, 16/11/1982.- *Dpto. San Alberto*: Mina Clavero, Bonzani 51, 3/4/1996.- *Dpto. Colón*: Agua de Oro, Bonzani 21, 2/10/1992.

Aloysia polystachya (Griseb.) Moldenke. *Prov. Córdoba. Dpto. Capital*: Ciudad, Bonzani 8, 19/3/1992.- *Dpto. Capital*: Ciudad, Ariza Espinar 3170, 28/4/1993.- *Dpto. Río Primero*: Río Primero, Ariza Espinar 3171, 28/4/1993.

Aloysia citriodora Palau. *Prov. Córdoba. Dpto. Capital*: Ciudad, Filippa 4, 10/12/1990; Bonzani 53, 29/9/1996.- *Dpto. Colón*: Agua de Oro, Bonzani 44, 13/2/1995.

Lantana camara L. *Prov. Córdoba. Dpto. Capital*: Ciudad (cult.), Bonzani 52, 19/7/1996; Ariza Espinar 3356, 31/3/97.

Lippia turbinata Griseb. *Prov. Córdoba. Dpto. Capital*: Ciudad de Córdoba,

Stuckert 549, 2/11/1896.- *Dpto. Río Cuarto*: Río Cuarto, Stuckert 19469, 10/12/1908.- *Dpto. Capital*: Ciudad de Córdoba, Bonzani 9, 31/12/1983.- *Prov. Santiago del Estero. Dpto. Capital*: Alrededores de la ciudad, Filippa 27, 15/2/1997.

Lippia junelliana (Mold.) Troncoso. *Prov. Córdoba. Dpto. Colón*: Agua de Oro, Filippa 10, 2/10/1992.- *Dpto. Colón*: Casa Bamba, Stuckert 3670, 7/11/1897.- *Prov. La Rioja. Dpto. San Martín*: La Diana, Stuckert 17145, 12/3/1907.

OBSERVACIONES

I. Estructuras estomáticas. En tallos y hojas, especialmente sobre los nervios del hipofilo, de la totalidad de las especies estudiadas, se han observado distintos tipos de estructuras estomáticas. Según su disposición, tales estructuras pueden encontrarse solitarias (estomas apenas elevados y estomas sobre columnas), o bien, agrupadas (estomas en criptas). A continuación se describe cada una de ellas:

Tipo I. Estomas apenas elevados. Corresponde al típico aparato estomático formado por células oclusivas y acompañantes que se encuentran ligeramente elevadas sobre el resto de la epidermis. Este tipo es el más común y aparece en la epidermis foliar de las seis especies analizadas.

Tipo II. Estomas elevados por columnas. Los estomas asientan sobre una estructura que resulta de evaginaciones epidérmicas de distintos grados de complejidad y elevación (Fig. 1A-E; 2A-C; 3C); tal estructura es una verdadera columna que eleva los estomas considerablemente sobre la superficie del órgano, constituyendo áreas de resalto.

La columna puede ser unistratificada (Fig. 1A, B, D, E) o, en parte, bistratificada (Fig. 1C); sus células son isodiamétricas y poseen un contenido citoplasmático más o menos denso que se tiñe intensamente con rojo neutro; el núcleo es bastante mayor que los demás núcleos de las células epidérmicas (Fig. 1C).

En los bordes externos de las células oclusivas, la cutícula está notablemente engrosada; la cámara subestomática queda incluida en la elevación (Fig. 1C), si bien, se extiende también hasta el clorénquima o colénquima subyacentes (Fig. 1A, B, E).

Según la morfología que adopte la columna, se diferencian los siguientes subtipos:

Subtipo IIa. Columna micromameliforme. De ca. 50 micras de altura. El único estrato celular de la columna, formado por 4-8 células, determina —cerca de su base y un poco más arriba del resto de la epidermis—, una escotadura (Fig. 3C). De esta manera, la estructura adquiere una característica forma globoso-pedicelada, con las células oclusivas en su ápice redondeado. Se observó exclusivamente en *Lantana camara* sobre los nervios del hipofilo.

Subtipo IIb. Columna mameliforme. Mide 70-90 micras de altura. Está formada por 3-9 estratos celulares. En la base de la columna y a nivel de las restantes células epidérmicas, se forma la escotadura más o menos pronunciada (Fig. 1A). Las cé-

lulas, cubiertas por una gruesa cutícula, son de forma variada: isodiamétricas (Fig. 1A) o alargadas en sentido tangencial (Fig. 1E) o radial (Fig. 1C). En algunos casos, debido a divisiones periclinales, los estratos medios de la columna son biseñados, dándole entonces aspecto globoso (Fig. 1C). El ostiolo entre las células oclusivas se encuentra casi siempre abierto; la cámara subestomática, fuertemente cutinizada, es amplia y profunda, penetrando en los tejidos subepidérmicos (colenquimático y clorenquimático). Estos estomas están presentes en pecíolos y tallos de las tres especies de *Aloysia* observadas, en *Lantana camara* y en *Lippia juvelliana*.

Subtipo IIc. Columna cónico-cilíndrica. De ca. 50 micras. La columna unistratificada, 4-8-celular, eleva considerablemente las células oclusivas. No presenta escotadura en su región basal, por lo que su forma es subcilíndrica o subcónica (Fig. 1B, D; 2 B). Se ha observado en todas las especies estudiadas.

Tipo III. Estomas en criptas. Grupos de estomas se alojan en la base de criptas poco profundas del hipofilo, hallándose acompañados por numerosos tricomas que tapizan la superficie de la depresión. Este tipo se ha observado exclusivamente en *Lippia turbinata* (Fig. 3B).

II. Tricomas. Sólo se describirán aquellos tricomas que, por sus características, son raros o no han sido citados para la familia. Entre ellos, se destacan:

A. Tricomas con cojín basal. Son simples, unicelulares (raramente bicelulares), de paredes gruesas y verrucosas (Fig. 3E-G), con escaso contenido, y a menudo con depósitos de minerales y uno o varios cistolitos en la base. El extremo proximal del tricoma asienta sobre un cojín que lo eleva por encima de la superficie del órgano. Es común encontrar también cistolitos en las células que rodean al tricoma.

Según el número de estratos que integran el cojín, se distinguen dos subtipos:

Subtipo I. Tricoma sobre cojín unistrato (Fig. 3F, G). El cojín es unistrato, pluricelular, con células más o menos isodiamétricas o lageniformes, con gruesas paredes celulósicas.

Subtipo II. Tricoma sobre cojín bistratificado (Fig. 3E). Las células del cojín son alargadas radialmente; en el ápice divergen dejando una concavidad donde se aloja la base tricomática.

B. Tricoma sobre emergencia (Fig. 3D). El tricoma es elevado considerablemente de la superficie epidérmica por el desarrollo de una estructura pluristratificada (emergencia) que está formada, no sólo por tejido epidérmico sino también por estratos subyacentes de distinta naturaleza (parenquimática o colenquimática).

En los dos tipos de tricomas (con cojín basal y sobre emergencia), la zona de unión entre ambas partes es muy lábil, de manera tal que el tricoma se desprende fácilmente (Fig. 3F), quedando el cojín o la emergencia adherido al órgano vegetativo a manera de un acúleo.

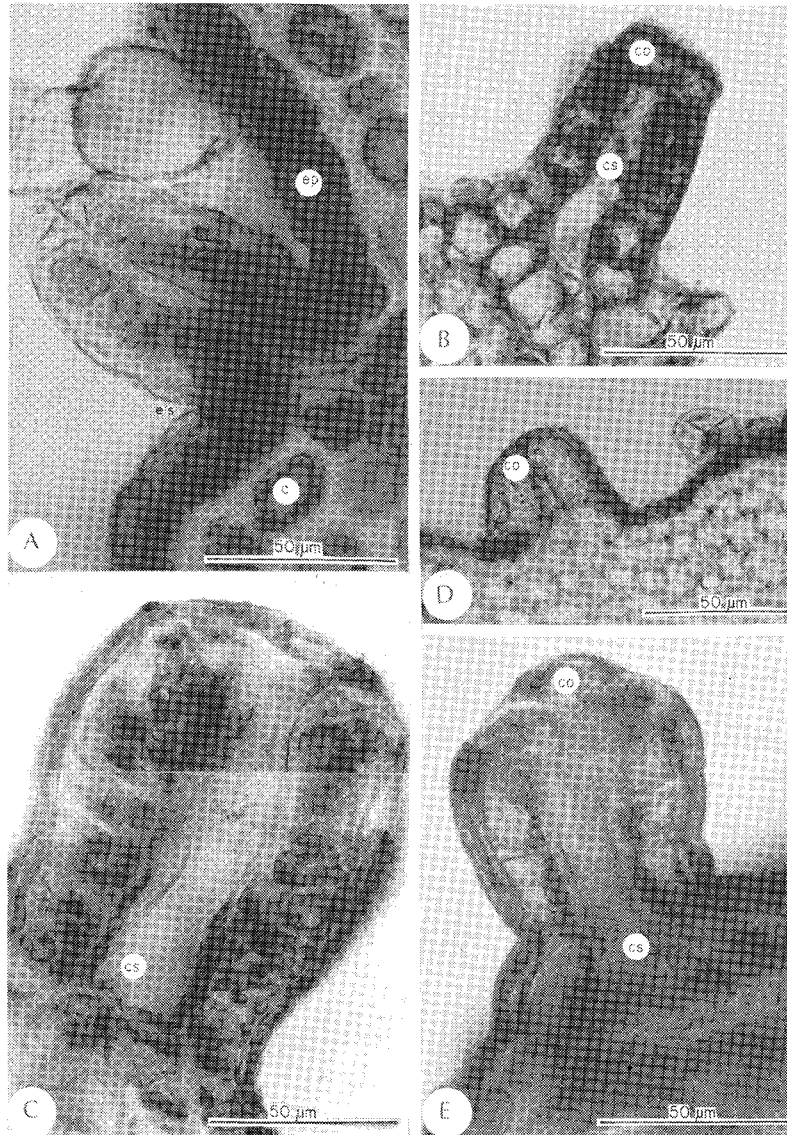


Fig. 1. Estructuras estomáticas. A: *Aloysia citriodora* (Filippa 4); B: *Lippia junelliana* (Filippa 10); C, D: *A. polystachya* (Bonzani 8); E: *Lantana camara* (Bonzani 52). A, E: Estomas sobre columna mameliforme (en A, obsérvense las células oclusivas en el ápice de la columna y la marcada escotadura), B: Estoma sobre columna cónico-cilíndrica, mostrando contenido denso y grandes núcleos, C: Estoma sobre columna mameliforme bistratificada, D: Vista general de un estoma sobre columna cónico-cilíndrica. Abreviaturas. c: colénquima; co: células oclusivas; cl: clorénquima; cs: cámara subestomática; ep: epidermis; es: escotadura.



Fig. 2. Fotomicrografías tomadas con MEB de las estructuras estomáticas. A, C: *Aloysia polystachya* (Bonzani 8); B: *Aloysia citriodora* (Filippa 4). A: Estoma sobre columna memeliforme (obsérvense también los tricomas eglandulares verrucosos y algunos glandulares); B: Estomas sobre columnas cónico-cilíndrica, en vista lateral; C: Detalle de A, mostrando el ostiolo abierto. Abreviaturas. O: ostiolo.

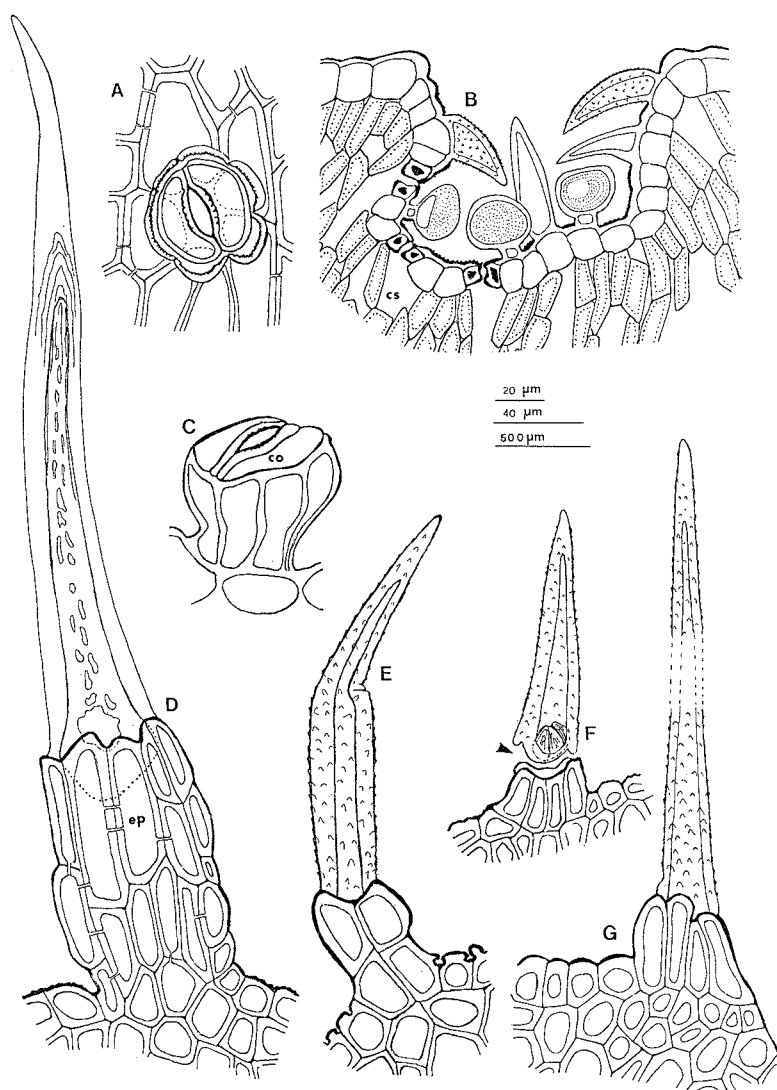


Fig. 3. Estructuras estomáticas y tricomas. A, C, D: *Lantana camara* (Bonzani 52); B: *Lippia turbinata* (Bonzani 9); E-G: *Lippia junelliana* (Filippa 10). A, C: Estomas micromameliformes, en vista superficial y lateral, respectivamente; B: Cripta estomática en corte transversal (se observan tres estomas, tricomas glandulares y eglandulares; D: Tricoma con deposiciones de cristales, sobre una emergencia (obsérvense las gruesas paredes con puntuaciones); E: Tricoma verrucoso sobre cojín bistratificado; F, G: Tricoma sobre cojín unistrato (en F se observa la separación entre el cojín y el tricoma unicelular, además de cistolitos en la base tricomática). La escala de 20 micras vale para A y C, la de 40 micras para D y la de 500 micras para B y E-G. Abreviaturas. cs: cámara subestomática; co: célula oclusiva; ep: epidermis.

DISCUSIÓN

Estructuras estomáticas. Una característica aparentemente no señalada para la familia es la compleja y variada organización que presenta el aparato estomático. Si bien su estructura y ontogenia han sido ampliamente estudiadas en distintos géneros (Metcalf y Chalk, 1950; Inamdar, 1968; Mathew y Shah, 1981; Cantino, 1990), nadie hizo referencia a los estomas de los subtipos IIa y IIb. En cambio, Botta (1993) señaló para dos especies de *Glandularia* Gmelin, estomas apenas elevados o sobreelevados, semejantes al subtipo IIc observado en las especies aquí analizadas; sin embargo, dicha autora no describe para tales estomas la columna que se evidencia en la figura 3E de su trabajo.

La variabilidad observada en la forma de la columna estomática puede considerarse como distintos estadios de desarrollo, ya que es común encontrar todos los subtipos en una misma especie.

Conviene destacar que los estomas elevados por columnas observados en verbenáceas son semejantes a los que Metcalf y Chalk (1979: 112) denominaron *stomata raised on columns*, para las Anacardiáceas.

Con respecto a la función, los estomas de tipo I (apenas elevados) y tipo III (en criptas), serían los responsables de la regulación de agua y gases. En cambio, la morfología tan peculiar de los estomas sobre columna sugieren una función distinta a la recién mencionada, probablemente secretora, a pesar de que a campo no fue posible obtener secreción alguna para analizar su composición química. Sin embargo, al teñirlos con sudán III, en las células de la columna se evidencian claramente glóbulos fuertemente coloreados (Fig. 1E) que, dada la alta especificidad con el colorante, nos lleva a suponer su naturaleza lipídica.

Con respecto a la presencia de estructuras secretoras en la familia, se han citado nectarios en tallos y hojas para varios géneros (Metcalf y Chalk, 1950; Inamdar, 1969). Para *Lantana*, Inamdar (1969) menciona la presencia de nectarios foliares, pero al no describirlos, la figura poco representativa de su trabajo no permite asemejarlos o diferenciarlos de lo que observamos en *L. camara*.

Tres aspectos muy llamativos encontrados en estas estructuras merecen destacarse: en primer lugar, estomas semejantes a los del tipo IIc de las verbenáceas, fueron observados por Fahn (1985) en nectarios de *Citrus* L.; de igual manera, Young *et al.* (1984) encontraron nectarios florales en representantes de esterculiáceas —a los que llamó nectarios estomatales—, con una organización similar a los estomas sobre columna; en estos dos casos, la secreción nectarífera se realiza por vía estomática. En segundo lugar, la falta de vascularización en estas estructuras coincide con los datos de Elias y Newcombe (1979) para nectarios extraflorales; dichos autores aseveran que no necesariamente el tejido vascular es indicador del grado de especialización de los tejidos sino que depende más bien del tamaño de las estructuras. Por último, si bien no poseen terminaciones vasculares, los estomas en columna se hallan ubicados preferentemente sobre el nervio principal de la lámina, o en las

costillas de los tallos. Todo ello sustenta la posible función secretora sugerida para estas estructuras.

Tricomas. Tanto los tricomas no glandulares como los capitados son característicos de las verbenáceas (Metcalf y Chalk, 1950). Diversos autores han analizado los tricomas desde un punto de vista descriptivo (Inamdar, 1968) o considerando su ontogenia (Mathew y Shah, 1983). En general, los tricomas observados en las seis especies coinciden con los datos de los autores citados; no obstante ello, si bien hacen referencia al origen, no han considerado particularidades morfológicas en detalle, como por ejemplo, la forma de las células y el grosor y la naturaleza de sus paredes.

Los tricomas con cojín basal fueron citados sólo para *Verbena* L. (Mathew y Shah, 1983) y *Glandularia* Gmelin (Mathew y Shah, 1983; Botta, 1993) con características semejantes a los hallados en *Aloysia*, *Lippia* y *Lantana*. Sin embargo, los tricomas sobre emergencia nunca se registraron para la familia. Tampoco es común encontrarlos en angiospermas; al respecto, estructuras similares son las emergencias urticantes descritas para algunas especies de euforbiáceas y loasáceas (Thurston y Lersten, 1969), los tricomas cónicos sobre un pedestal de *Wigandia kunthii* Choisy (Di Fulvio y Dottori, 1995), los tricomas con una base en forma de domo señalados para *Morus* L. o los tricomas bulboso-piriformes de *Broussonetia* Vent. y *Ficus* L. (Shah y Kachroo, 1975).

Por último, tanto los tricomas como los estomas sobre columna resultan de gran valor diagnóstico para reconocer estas plantas de interés medicinal, sobre todo cuando se desea garantizar la calidad de las muestras botánicas.

CONCLUSIONES

1. En verbenáceas, existe una variada organización del aparato estomático, a saber: estomas apenas elevados, estomas sobre columnas y estomas en criptas.
2. Los estomas sobre columnas y los tricomas sobre emergencia se describen por primera vez para la familia.
3. Se sugiere una probable función secretora para los estomas sobre columnas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis Ariza Espinar, quien controló la identificación del material estudiado, leyó el manuscrito y nos brindó su apoyo y estímulo en todo momento. Al Biól. G. Rivera por poner a nuestra disposición bibliografía relacionada con el tema. A la Dra. E. Di Fulvio por la lectura crítica de este trabajo y a la Dra. E. Ancibor por las valiosas sugerencias para mejorar las ilustraciones. Al Consejo de Investigación de la Provincia de Córdoba (CONICOR) y a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba (SECyT- U.N.C.), sin cuyo aporte económico no hubiera sido posible la realización de este trabajo. A todos ellos nuestro sincero agradecimiento.

LITERATURA CITADA

- BOTTA, S. M. 1993. Notas en el género *Glandularia* (Verbenaceae: Verbenoideae): 3. Estudio taxonómico de las especies patagónicas. *Parodiana* 8 (1): 9-36.
- BRUNETON, J. 1995. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Lavoisier Publ., Paris.
- CANTINO, P. D. 1990. The phylogenetic significance of stomata and trichomes in the *Labiatae* and *Verbenaceae*. *J. Arnold Arbor.* 71: 323-370.
- CONN, H., M. A. DARROW y V. M. EMMEL. 1960. *Staining Procedures: I-XII*, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1-289.
- DI FULVIO, T. y N. DOTTORI. 1995. Contribución al conocimiento de tricomas y emergencias en *Hydrophyllaceae*. Clasificación y consideraciones taxomómicas. *Kurtziana* 24: 19-64.
- ELIAS, T. S. y L. F. NEWCOMBE. 1979. Foliar nectaries and glandular trichomes in *Catalpa* (*Bignoniaceae*). *Acta Bot. Sin.* 21 (3): 215-223.
- FAHN, A. 1985. *Anatomía vegetal*. Ed. Pirámide, Madrid.
- FESTER, G. A., E. A. MARTINUZZI, J.A. RETAMAR y A. I. RICCIARDI. 1961. *Aceites esenciales de la República Argentina*. Academia Nacional de Ciencias, Córdoba. pp. 1-113.
- INAMDAR, J. A. 1969. Epidermal structure and ontogeny of stomata in some *Verbenaceae*. *Ann. Bot.* 33: 55-66, figs. 1-7.
- MATHEW, L. y G. L. SHAH. 1981. Observations on the structure and ontogeny of stomata in some *Verbenaceae* with a note on their taxonomic significance. *Feddes Repert.* 82 (7-8): 515-526.
- MATHEW, L. y G. L. SHAH. 1983. Structure, development, organographic distribution and taxonomic significance of trichomes in nine species of *Verbena*. *Feddes Repert.* 94 (5): 123-333.
- METCALFE, C. R. y L. CHALK. 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Vol II. Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE, C. R. y L. CHALK. 1979. *Anatomy of dicotyledons*. Vol I. Clarendon Press, Oxford.
- RATERA, E. L. y M. O. RATERA. 1980. *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- SHAH, A. y P. KACHROO. 1975. Comparative anatomy in *Urticales*. I. The trichomes in *Moraceae*. *J. Indian Bot. Soc.* 54: 138-153, figs. 1-125.
- THURSTON, L. y R. LERSTEN. 1969. The morphology and toxicology of plant stinging hairs. *Bot. Rev.* 35 (4): 393-412, f. 1-26.
- TOURSARKISSIAN, M. 1980. *Plantas medicinales de la Argentina. Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- TRONCOSO, N. y S. BOTTA. 1993. *Verbenaceae*. In: A. L. Cabrera. *Fl. Prov. Jujuy* 9: 1-117. Colección Científica INTA.
- YOUNG, A. M., M. SCHALLER, y M. STRAND. 1984. Floral nectaries and trichomes in relation to pollination in some species of *Theobroma* and *Herrania* (*Sterculiaceae*). *Amer. J. Bot.* 71: 466-480.